

DEET som malariaprofylakse – er norske retningslinjer hensiktsmessige?

Prosjektoppgave

Tore Taksdal Stubhaug, stud. med.

Veileder:
Bjørn Myrvang
Infeksjonsmedisinsk avdeling
Ullevål universitetssykehus

Universitetet i Oslo
Det medisinske fakultet
2. oktober 2009

Abstract

Background. Prevention of mosquito bites is an important part of a malaria prevention strategy. The insect repellent *N,N*-diethyl-*m*-toluamide (DEET) is the globally most widely used product for this purpose. DEET is considered very effective and is the gold standard for mosquito repellents. However, there are concerns related to possible toxic effects, most notably seizures or other neurologic symptoms, particularly in children. In Norway, the sale of products containing more than 20 % DEET is prohibited, whereas higher concentrations are allowed and recommended in Canada, the United Kingdom and the United States.

Objective. To determine the best practice for DEET use for the purpose of malaria prevention, based on current literature, with an emphasis on a trade-off between optimal effect and avoidance of adverse reactions. Also, specifically to determine whether the Norwegian limitation of 20 % DEET maximum is warranted.

Methods. The project is based on original and review articles in medical journals, obtained through literature searches in the databases MEDLINE/PubMed and EMBASE. The search terms “DEET” and “concentration” were used, and combined with keywords such as “efficacy”, “repellency”, “effect”, “adverse effects” and “toxicity”.

Results. The duration of action of DEET is directly dependent on the concentration of DEET applied to the skin. Mosquitoes of the genus *Anopheles* have a significantly higher tolerance to DEET than mosquitos of the genera *Aedes* and *Culex*. Based on this, and other factors such as climate that influence the duration of action of DEET in tropical areas, a concentration of 20 % may be too low to provide adequate protection against malaria vector mosquitoes. There is no evidence that higher concentrations of DEET lead to a higher risk of toxicity, although pharmacological studies suggest that concern should be used when applying DEET to children. Products that deliver DEET through a polymer or liposphere formulation may reduce the amount of DEET absorbed and thereby the risk of systemic adverse effects, although these products have not been systematically evaluated.

Innholdsfortegnelse

1. Bakgrunn	4
2. Hensikt	4
3. Metode.....	5
4. Resultater.....	5
4.1. Faktorer som har betydning for DEETs effektivitet	5
4.1.1. Virkemåten til insektsrepellenter.....	5
4.1.2. Metoder for testing av DEET	6
4.1.3. Produktets konsentrasjon.....	6
4.1.4. Produktets formulering.....	7
4.1.5. Effektivitet mot ulike myggarter	8
4.1.6. Bruksmåte.....	8
4.2. Risiko for bivirkninger/toksisitet	9
4.2.1. DEETs farmakokinetikk.....	9
4.2.2. Toksikologiske studier.....	9
4.2.3. Retrospektive observasjoner av erkjente eksponeringer	10
4.2.4. Bruk hos barn	12
4.2.5. Bruk hos gravide	13
5. Diskusjon.....	14
6. Konklusjon	16
7. Litteratur.....	16

1. Bakgrunn

Beskyttelse mot myggstikk ansees som en viktig del av en preventiv strategi mot myggbårne sykdommer, herunder malaria (1, 2). Dette inkluderer valg av bekledning, bruk av myggmiddelimpregnerte klær og sengenett, samt personlige insektsrepellenter¹ som brukes på bar hud. DEET (*N,N*-dietyl-*m*-toluamid) har vært brukt som myggrepellent i mange år, er fortsatt en av den mest brukte myggrepellentene i verden og regnes som gullstandard (3, 4). Den brukes blant annet av den amerikanske hæren på oppdrag i tropiske strøk (5), og anbefales av myndighetene i en rekke land for turister som oppholder seg i malariaområder (2, 6, 7). DEET brukes anslagsvis av fler enn 200 millioner personer pr. år (4). Samtidig er det rapportert om bivirkninger/toksiske reaksjoner etter bruk av DEET. De alvorligste rapportene dreier seg om nevrologiske bivirkninger, hovedsakelig generaliserte krampeanfall (8).

Retningslinjene for bruk av DEET varierer mellom ulike land, herunder maksimalt tillatte konsentrasjon. I USA er det ingen begrensning på hvor høy konsentrasjon som er tillatt markedsført, og det selges en rekke produkter som inneholder opp til 100% DEET (5). Centers for Disease Control and Prevention skriver i sin veiledning til reisende at konsentrasjoner opptil 50% ansees som trygge fra og med to måneders alder (2). Tilsvarende opplyser Health Protection Agency i Storbritannia at bruk av DEET ansees som trygt fra og med to måneders alder, og anbefaler en konsentrasjon på 50%. Konsentrasjoner på under 20% omtales som utilstrekkelig. (6) I Canada er grensen satt til 30% (7).

I Norge la Statens Forurensningstilsyn i 2003 ned forbud mot salg av myggmidler inneholdende mer enn 20 % DEET. Tidligere hadde dette vært en anbefalt øverste grense, mens høyere konsentrasjoner fremdeles var tillatt. Statens Forurensningstilsyn viser til at DEET er et stoff som faller inn under EUs biociddirektiv, som pålegger land som har innført dette (inkludert Norge) å etablere et regelverk for bruk av dette stoffet. SFT viser også til at Folkehelseinstituttet er kommet med en uttalelse som tilsier at 20 % DEET er tilstrekkelig for å beskytte mot mygg (9).

Flere norske leger som arbeider med tropemedisin har stilt spørsmål om hensiktsmessigheten ved denne regelen. (10, 11) Det vises til at DEET er et velprøvd middel, og at det ikke er holdepunkter for at toksisiteten er konsentrasjonsavhengig. Samtidig trekkes det frem at kravene til myggbeskyttelse er større i malariaendemiske områder enn i en laboratoriesituasjon, og at en rekke faktorer som svette, luftfuktighet og regn gjør det nødvendig med en høyere konsentrasjon enn i en laboratoriesituasjon.

2. Hensikt

Formålet med oppgaven er å bringe på det rene hvilke prinsipper for bruk av DEET som er mest hensiktsmessige for beskyttelse mot malaria, med bakgrunn i tilgjengelig litteratur. Bruken av DEET bør bestemmes ut fra et optimum mellom beskyttende effekt mot myggstikk på den ene siden, og unngåelse av bivirkninger på den andre siden. Problemstillingen kan altså deles i to:

1. Er effekten av DEET som myggrepellent avhengig av konsentrasjonen i anvendt produkt, og hva er i så fall optimal konsentrasjon for best mulig effekt?

¹ Insektsrepellent: Stoff som påføres, eller utskilles gjennom, huden, og som har som effekt å virke avstøtende på stikkende/bitende insekter.

2. Er risikoen for bivirkninger eller toksisitet av DEET avhengig av konsentrasjonen i anvendt produkt, og hva er i så fall optimal konsentrasjon for lavest risiko?

Spesielt vil oppgaven legge vekt på hvorvidt det norske forbudet mot produkter som inneholder med enn 20% DEET er hensiktsmessig etter de ovennevnte prinsippene.

3. Metode

Det ble søkt i databasene PubMed og EMBASE ved hjelp av følgende nøkkelord:
deet AND concentration AND (efficacy OR repellency OR effect)
deet AND concentration AND (toxicity OR adverse reactions)
deet AND concentration

I basen EMBASE ble det også gjort ved hjelp av søkeordet "exp Diethyltoluamide", med subheadings "Drug Concentration", "Adverse effects" og "Drug toxicity".

Kriteriet for å inkludere artikler i studien var at de kunne svare på ett av de to hovedspørsmålene (forholdet mellom DEET-konsentrasjon og effekt, eller forholdet mellom DEET-konsentrasjon og bivirkninger/toksisitet). Det ble lagt spesiell vekt på å finne review-artikler, men ettersom mengden litteratur på dette området er begrenset, ble samtlige søkeresultater gjennomgått.

I tillegg ble anbefalinger for bruk av myggrepellenter som malariaproylakse innhentet fra myndighetene i USA, Storbritannia og Canada. Bakgrunnsstoff ble også innhentet ved å gå gjennom relevante litteraturhenvisninger i artiklene som ble tatt med i studien.

4. Resultater

4.1. Faktorer som har betydning for DEETs effektivitet

4.1.1. Virkemåten til insektsrepellenter

Insektsrepellenter som påføres huden virker gjennom at de fordamper, og dermed danner et lag av damp som frastøter insekter rundt hudområdet eller klærne de er påført. Dette damplaget er effektivt opp til en avstand av ca. 4 cm fra det hudområdet det er påført; effektiv beskyttelse er derfor avhengig av at all bar hud tildekkes (4). Etter bruk av DEET vil stoffet etter hvert forsvinne fra huden gjennom fordampning. I tillegg vil varme, fuktighet, svette og mekanisk påvirkning av huden kunne medføre at effekten avtar raskere (4, 5). I slike situasjoner vil det altså være et større behov for reapplisering av stoffet. Temperatur i omgivelsene er også av betydning; en temperaturøkning på 10 °C kan medføre en nedgang i beskyttelsestiden på opptil 50%. (4)

4.1.2. Metoder for testing av DEET

Det er gjort flere tester av myggrepellenter der DEET inngår. Mange av disse testene sammenligner DEET med andre repellenter, mens noen i tillegg sammenligner ulike konsentrasjoner av DEET seg imellom.

Metodologien for testene varierer. En måte å teste repellenter på er såkalte "arm-in-cage studies". Dette er en laboratoriebasert test der testpersonene plasserer en arm påført repellent inn i et bur inneholdende mygg. Mulige mål for repellentens effektivitet er for eksempel tidspunkt for første myggstikk, eller antall mygg som lander på huden i løpet av en gitt periode. En annen måte er "field testing", der forsøkspersonene påfører repellent på en tilmålt mengde bar hud og deretter setter seg i et område med mygg i naturlige omgivelser. Mygg som lander på forsøkspersonene fanges inn, og antall mygg benyttes som mål på effektiviteten. Disse metodene har forskjellige fordeler og ulemper. En fordel med "arm-in-cage"-studier er at testene er standardisert, slik at tilfeldige faktorer som klimatiske forhold og tilfeldige variasjoner i antall mygg får mindre betydning. "Field testing" har derimot den fordelen at resultatene lettere kan overføres til virkelig bruk. For eksempel er det kjent at effektiviteten til en repellent kan variere betydelig avhengig av hvilken myggart den brukes mot (12).

4.1.3. Produktets konsentrasjon

Flere oversiktsartikler viser til forsøk og matematiske modeller som har konkludert med at DEETs effektivitet, i form av beskyttelsestiden, øker med anvendt konsentrasjon, men når et platå ved en konsentrasjon på 2 mg/cm² hudoverflate. (4, 5, 13, 14). Den beskrevne virketiden varierer imidlertid.

For produkter med 30% DEET er det beskrevet beskyttelsestider på ca. 4 timer (3) til seks timers (13). Noen studier har også vist en beskyttelsestid på 8 timer for denne konsentrasjonen (3, 4).

Fradin og Day har utført en "arm-in-cage"-studie av 16 repellenter, inkludert tre konsentrasjoner av DEET (4,75%; 6,65% og 23,8%), samt en "extended release"-formulering av DEET med en konsentrasjon på 20% (15). Metodologien i studien er godt beskrevet. Det ble brukt 15 testpersoner, 5 menn og 10 kvinner, og alle testpersonene forsøkte samtlige repellenter tre ganger. Testen ble foretatt ved at en arm ble påført repellent i henhold til produsentens bruksanvisning. Deretter ble denne plassert i et bur inneholdende 10 mygg av arten *Aedes aegypti*. Armen ble plassert i buret ett minutt om gangen, med intervaller etter en protokoll som sørger for at det maksimalt går 15 minutter mellom hver innføring i slutfasen.

Resultatene hva gjelder DEET er oppsummert i tabell 1. Disse viser at beskyttelsestiden målt som tid til første myggstikk blir lengre ved økende konsentrasjon. Resultatene er signifikante ($P < 0,001$ ved sammenlikning av hver konsentrasjon med konsentrasjonen under). Produktet som inneholder 23,8% DEET i etanol beskyttet bedre enn extended release-produktet med 20% DEET ($P < 0,001$). Et annet funn i denne studien var at DEET ga best beskyttelse av alle repellentene i testen. Det eneste produktet som oppnådde en tilsvarende beskyttelse var et soyaoljebasert produkt som ga en beskyttelsestid på 94,6 minutter, altså omtrent tilsvarende som de to DEET-produktene med lavest konsentrasjon.

En svakhet med denne studien er imidlertid at den ikke tester produkter med en høyere konsentrasjon enn 23,8%. Produkter med opp til 95% DEET finnes på markedet, og det hadde vært relevant å teste om disse kunne gitt enda lenger beskyttelse.

DEET-konsentrasjon	Tid til første bitt, gjennomsnitt (min)	Standard-avvik	Max – min
4,75%	88,4	21,4	45 – 120
6,65%	112,4	20,3	90 – 170
20% extended release	234,4	31,8	180 – 325
23,8%	301,5	37,6	200 – 360

Tabell 1. Resultatene for DEET-baserte myggrepellenter testet mot *Aedes aegypti* av Fradin og Day 2001 (15).

I andre studier er konsentrasjonen angitt som milligram DEET pr. cm² hudoverflate. Denne hudkonsentrasjonen avhenger direkte av mengden DEET som påføres huden.

Costantini et al. utførte i 2003 en test av flere insektsrepellenter, herunder DEET (16). Denne ble gjort som en "field trial", med fire konsentrasjoner fra 0,1 mg/cm² til 0,8 mg/cm². I tillegg ble det gjort en negativ kontroll ved hjelp av personer som ikke benyttet repellent. Testen ble gjort ved at to og to personer, plassert i en landsby i Burkina Faso, fanget opp alle mygg som landet på bar hud. Myggene ble senere artsbestemt. Studien viser at beskyttelsestiden, målt som tiden repellenten ga 95% beskyttelse mot mygg, økte med konsentrasjonen og var høyest for den høyeste konsentrasjonen, 0,8 mg/cm². Videre ble halveringstiden for DEET fra huden beregnet til 2,9 timer (95% CI: 2,6 – 3,2).

Golenda et al. testet ulike konsentrasjoner av EDTIAR-formuleringen av DEET, en polymerbasert formulering opprinnelig utviklet av det amerikanske forsvaret (17). Studien viste en invers lineær sammenheng mellom DEET-konsentrasjon på huden i mg/cm² og totalt antall myggstikk ($r^2 = 0,799$).

4.1.4. Produktets formulering

I kommersielle repellenter finnes DEET gjerne i form av en løsning i etanol, eventuelt tilsatt andre stoffer som for eksempel luktstoffer eller planteoljer. Konsentrasjonen av DEET i produkter på markedet varierer fra ca. 4% til 95%. Det finnes også såkalte "extended release"-formuleringer som i stedet for etanol inneholder polymerer, fettstoffer eller liknende. Hensikten med "extended release"-produkter er å få en jevnere, mer langvarig fordampning av produktet fra huden, slik at beskyttelsestiden forlenges. (4). En bieffekt av slike formuleringer er at absorpsjonen av DEET gjennom huden reduseres (18). Antatt årsak til dette er at etanol er vist å øke absorpsjonen av DEET. (19)

Det er beskrevet at 3Ms Ultrathon-formulering, som inneholder 35% DEET i en polymerbase, er like effektivt som 75% DEET (4). En studie fra 2001 fant at en formulering basert på liposfærer var 1,2 ganger mer effektiv enn tilsvarende konsentrasjon i en etanolformulering (20). Andre studier har ikke vist noen forskjell mellom etanolformuleringer og polymerbaserte formuleringer (15, 21).

4.1.5. Effektivitet mot ulike myggarter

Mygg som stikker mennesker er gruppert i familien *Culicidae*. De vanligste slektene på verdensbasis er *Aedes*, *Culex* og *Anopheles*. De to førstnevnte er klassifisert i underfamilien *Culicinae*, mens *Anopheles* er i en egen underfamilie, *Anophelinae*. Alle tre har medisinsk betydning, da enkelte arter av *Aedes* kan overføre gulfeber, denguefeber og chikungunya, *Culex* kan overføre forskjellige typer encefalittvirus, mens *Anopheles* overfører malaria. I laboratorieforsøk er det vanlig å bruke *Aedes aegypti*, da denne arten biter villig og er lett å avle til laboratoriebruk (12).

Frances et al. har testet 20% DEET i etanol og en 35% extended release-formulering mot mygg i Australia. (22). Studien ble gjort som en "field study" med repellentbehandlede testpersoner, samt kontrollpersoner behandlet med etanol alene. Effektiviteten til repellenten ble målt ved å sammenligne antall mygg som landet på testpersonene versus kontrollpersonene, og dette ga en effektivitetskoeffisient i prosent. Studien viste en stor forskjell mellom beskyttelsen mot *Anopheles* sp. versus *Culex annulirostris*. 35% extended release-formuleringen av DEET ga 95% beskyttelse mot *Anopheles* sp. i én time, mens 20% DEET i etanol ikke oppnådde én time med 95% beskyttelse. Mot *Culex annulirostris* var begge konsentrasjoner 95% effektive i minst 7 timer.

Dersom man beregner effektivitetskoeffisient for DEET på samme måte ut fra resultatene til Costantini et al. (16), oppnår man en koeffisient på 76,4% for *Anopheles*, og 97,2% for *Aedes*. Det hefter imidlertid noe usikkerhet ved disse tallene på grunn av stor forskjell med hensyn til antall innfangede mygg av hver slekt (48 659 for *Anopheles* og 757 for *Aedes*).

En laboratorietest av "arm-in-cage"-typen utført av Badolo et al. tester DEET mot både *Aedes aegypti* og *Anopheles gambiae*. Man fremstilte testløsninger ved å løse en tilmålt mengde DEET i etanol. I dette forsøket estimerte man konsentrasjonen av DEET pr. kvadratcentimeter hudoverflate, angitt i $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Det ble beregnet en beskyttelseskoeffisient basert på antall mygg som landet på en behandlet arm som ble plassert i et bur med mygg i 30 sekunder. Testene ble gjort i sekvens med økende konsentrasjon av DEET. Det ble gjort en kontroll med en arm kun påført etanol både før og etter testene med DEET. Man fant en lineær sammenheng mellom konsentrasjon og effekt ($p < 0,001$). Dosen som ga 90% beskyttelse var $20,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ (95% CI 5,2 – 14,6) for *Aedes aegypti*, og $89,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ (95% CI 54,9 – 154,5) for *Anopheles gambiae* (37). Forskjellen mellom artene er signifikant ($p = 0,001$). Studien viser at *Anopheles* er betydelig mindre følsom for DEET enn *Aedes*, men tester ikke hvordan effekten vedvarer over tid.

4.1.6. Bruksmåte

Et forsøk der 124 frivillige testpersoner som planla å reise til malariaområder ble bedt om å vise hvordan de ville påføre repellent, viser at gjennomsnittlig påført dose var $0,58 \text{ mg}/\text{cm}^2$ på armer og $0,68 \text{ mg}/\text{cm}^2$ i nakke ved bruk av produkter med konsentrasjon over 50%; $0,23 \text{ mg}/\text{cm}^2$ på armer og $0,33 \text{ mg}/\text{cm}^2$ i nakke ved bruk av produkter med konsentrasjon mellom 20% og 49; og $0,13 \text{ mg}/\text{cm}^2$ (N = 27) på armer og $0,18 \text{ mg}/\text{cm}^2$ (N = 30) i nakke ved bruk av konsentrasjoner under 20% (14). Samme studie viser til resultater fra 1983 som tilsier at doser over $1 \text{ mg}/\text{cm}^2$ gir tilstrekkelig beskyttelse uten behov for ny påføring, mens doser under $0,5 \text{ mg}/\text{cm}^2$ ansees som for dårlige. I denne studien var det altså kun personer som brukte

produkter med minst 50% DEET som oppnådde en konsentrasjon på huden over 0,5 mg/cm², men selv en betydelig del av dem som brukte konsentrasjoner over 50% ikke oppnådde dette.

Golendas forsøk med EDTIAR-formuleringen som brukes av det amerikanske forsvaret, inkluderte også en beregning av hvilken dose som ble påført ved normal bruk. Gjennomsnittlig påført dose ved bruk etter bruksanvisningen var 1,21 mg/cm² for kvinner og 1,14 mg/cm² for menn (17). Her var fremgangsmåten noe annerledes, siden testpersonene fikk anvist hvilken mengde av produktet som skulle brukes.

Ved bruk av produkter med lavere konsentrasjoner vil det være nødvendig å påføre mer av produktet for å oppnå en akseptabel konsentrasjon på huden. I tillegg må appliseringen gjentas oftere for å kompensere for kortere virketid. De fleste bruker imidlertid ikke mer produkt for å kompensere for lav konsentrasjon (14).

4.2. Risiko for bivirkninger/toksisitet

4.2.1. DEETs farmakokinetikk

Ved applisering av DEET vil en del av den påførte dosen absorberes gjennom huden og gå over i blodet. En studie med radioaktivt merket DEET viste at gjennomsnittlig 5,6% av påført dose absorberes ved påføring av 100% DEET, mens gjennomsnittlig 8,4% absorberes ved påføring av 15% DEET i etanol. Størsteparten av den absorberte dosen skilles ut gjennom urinen i løpet av de første 12 timene etter påføring av stoffet, og utskillelsen er tilnærmet ferdig etter 24 timer. (23). Mengden som absorberes blir større dersom løsningen inneholder etanol (8, 18, 19, 24), mens formuleringer basert på polyetylenglykol, polyakrylsyre eller liposfærer gir nedsatt absorpsjon (3, 8). Ved oralt inntak av DEET kan serumkonsentrasjonen bli flere hundre ganger høyere enn ved inntak gjennom huden (13, 25).

De mest alvorlige toksiske reaksjonen på DEET som er beskrevet dreier seg om nevrologiske symptomer, oftest i form av generaliserte krampeanfall (8, 24). DEET kan også irritere hud og slimhinner, og parestesier, mild irritasjon og kontaktdermatitt er rapportert (3).

4.2.2. Toksikologiske studier

Systemisk eksponering for høye doser DEET kan gi nevrologisk toksisitet i rotteforsøk (3, 8). Det kan også se ut til at høye doser DEET kan virke synergistisk med insektmidlet permethrin (26). Dette forsøket ble imidlertid gjort med svært høye doser (500 mg/kg/dag), og eksponering i denne størrelsesorden er usannsynlig hos mennesker (24, 27). Resultatene fra dyreforsøk er motstridende, og mekanismen for den observerte nevrotoksisiteten er ikke sikker og vanskelig å ekstrapolere fra dyreforsøkene (8). Generelt blir nevrotoksisitet i dyreforsøk kun sett samtidig med generell toksisitet, noe som tyder på at DEET ikke er et selektivt nevrotoksin (5).

Ved vurdering av akseptabelt inntak av et legemiddel er det vanlig å gjøre dyreforsøk med økende doser av stoffet som testes. Høyeste dose som ikke gir observerbare effekter hos forsøksdyrene kalles "no observed effect level" (NOEL). Tilsvarende verdi hos mennesker beregnes ved å multiplisere NOEL hos forsøksdyrene med en konversjonsfaktor. For eksempel er konversjonsfaktoren fra rotte til menneske 5 (28). Akseptabelt daglig inntak hos

mennesker settes vanligvis til en dose som er 100 ganger lavere enn beregnet NOEL (29). Denne sikkerhetsmarginen kalles MOE (margin of exposure).

I forbindelse med godkjenning av DEET som legemiddel har myndighetene i flere land utført evalueringer av DEETs toksisitet. Environmental Protection Agency i USA gikk systematisk gjennom dyreforsøk med DEET, og fant en oral LD₅₀ på 2170 – 3664 mg/kg hos rotter, samt en dermal LD₅₀ på 4280 mg/kg hos kanin. Ved dyreforsøk var NOEL for akutt nevrotoksisitet hos rotter 200 mg/kg/dag. Ved subkronisk eksponering over 90 dager ble det funnet effekter hos diverse forsøksdyr fra konsentrasjoner på ca 100 mg/kg/dag.

EPA beregnet gjennomsnittlig eksponering for DEET ved normal bruk hos mennesker. Denne ble beregnet til 9,68 mg/kg/dag for voksne kvinner; 12,10 mg/kg/dag for voksne menn; 21,05 mg/kg/dag for barn fra 13 til 17 års alder; og 37,63 mg/kg/dag for barn under 13 år. En teori som har vært fremmet for å forklare den økte eksponeringen for barn ved normal bruk er at denne skyldes økt forhold mellom hudoverflate og kroppsvekt hos disse aldersgruppene (30). På bakgrunn av disse funnene ble DEET godkjent for bruk i alle konsentrasjoner, forutsatt at visse retningslinjer ble tatt med i bruksanvisningene for produktene (27).

Tilsvarende har Health Canada gjort en liknende evaluering. Health Canada beregner at en MOE på 100 kun er mulig å oppnå ved bruk av produkter med høyst 30% DEET. På bakgrunn av dette besluttet Health Canada å forby produkter inneholdende mer enn 30% DEET for bruk hos voksne, og å tillate maksimalt 10% ved bruk hos barn. I tillegg ble det bestemt at barn under 2 år kun skal påføre DEET en gang om dagen. Samtidig ble det gjort en vurdering av effekt, hvor man fant at forholdet mellom økning i total beskyttelsestid og økning i konsentrasjon avtok med økende konsentrasjon, og at produkter med mer enn 30% DEET ikke regnes som nødvendige for å beskytte mot myggstikk (31). Det angis at dette hovedsakelig er basert på studier med myggen *Aedes aegypti*.

Antwi et al. har gjennomført en toksikologisk studie av myggrepellentene DEET og pikaridin. (28) Denne studien bruker en NOEL på 200, 300 og 100 mg/kg/dag for henholdsvis akutt, subkronisk og kronisk toksisitet, basert på litteraturstudier. Dette er tilnærmet likt de verdiene EPA har benyttet i sin evaluering. De samme verdiene som i Health Canadas evaluering ble brukt som mål på eksponering for DEET ved normal bruk hos mennesker. Ut fra prinsippet om en fant studien at maksimale akseptable konsentrasjon ved én applisering pr. dag var 100% for voksne menn; 90,7% for voksne kvinner; 68,4% for barn i alderen 13 – 17 år og 33,8% for barn under 12 år. Imidlertid vil det kunne være nødvendig å påføre repellenter flere ganger pr. dag. MOE vil da måtte deles på antall eksponeringer. Ved slik beregning vil det ikke være mulig å oppnå en MOE på 100 ved bruk av høyere konsentrasjoner enn 10% ved mer enn én applisering pr. dag. Forfatterne antar likevel at eksponering for DEET ved normal bruk ikke vil overskride NOEL, men det er klart at marginene blir mindre, og at risikoen for uønskede effekter vil være tilstede dersom produktet ikke brukes i henhold til sikkerhetsforskriftene.

4.2.3. Retrospektive observasjoner av erkjente eksponeringer

Bell et al. utførte i 2002 en retrospektiv studie basert på tilfeller av DEET-relatert toksisitet meldt til American Association of Poison Control Centers (AAPCC) i USA i perioden 1993 – 1997 (32). Alle eksponeringer som meldes til disse sentrene blir klassifisert i en database, der

variable som pasientens kjønn og alder, eksponeringsmåte, konsentrasjon og observert effekt blir registrert. Totalt er det meldt 20 764 eksponeringer for DEET i denne perioden, hvorav flesteparten (65,4%) var barn. To av eksponeringene førte til dødsfall, men for ett av dødsfallene var det pga. lite informasjon i rapporten ikke mulig sikkert å knytte dette til bruk av DEET.

Tilfellene fordelte seg slik basert på eksponeringsmåte: oral 10 748 tilfeller (51,8%); inhalasjon 520 tilfeller (2,5%); hudeksponering 2 179 tilfeller (10,5%); okulært 4 422 tilfeller (21,3%), og flere eksponeringsmåter samtidig 2 780 tilfeller (13,4%).

Blant de tilfellene der eksponeringsmåten var gjennom huden, rapporterte 1 870 (85,8%) at eksponeringen ikke medførte symptomer, mens 309 (14,2%) rapporterte symptomer. Det hyppigst affiserte organsystemet ved dermal eksponering for DEET var huden.

Organsystemene som ble påvirket og alvorlighetene av eksponeringen er oppsummert i tabellene 2 og 3.

Affisert organsystem	Antall (%)
Hjerte/kar	16 (0,7%)
Hud	580 (26,6%)
Gastrointestinaltraktus	122 (5,6%)
Blod/lever	0 (0,0%)
Nervesystemet	118 (5,4%)
Øye	27 (1,2%)
Respirasjonssystemet	30 (1,4%)
Diverse	94 (4,3%)

Tabell 2: Affisert organsystem ved dermal eksponering for DEET, fra Bell et al (32)

Utfall	Antall (%)
Ingen effekt	244 (11,2%)
Mild effekt	566 (26,0%)
Moderat effekt	163 (7,8%)
Alvorlig effekt	14 (0,6%)
Død	2 (0,1%)
Ukjent, antatt ikke-toksisk	179 (8,2%)
Ukjent, antatt minimalt toksisk	476 (21,8%)
Ukjent, antatt potensielt toksisk	80 (3,7%)
Eksponering avkrefte	0 (0,0%)

Tabell 3: Medisinsk utfall hos pasienter med dermal eksponering for DEET, fra Bell et al (32)

De to dødsfallene ved dermal eksponering var begge voksne. Den ene, en 26 år gammel mann, hadde applisert et produkt med en konsentrasjon på 52% DEET i store mengder ("liberally") i løpet av dagen. Han fikk symptomer i form av dyspné, et generalisert tonisk-klonisk anfall og oppkast. Han fikk senere ventrikkelflimmer og døde 1 – 2 timer etter siste applisering av produktet. Det andre dødsfallet var en 34 år gammel kvinne som ble innlagt på sykehus med hudsymptomer. Dette dødsfallet ble oppgitt å skyldes kronisk eksponering, men det foreligger ikke ytterligere informasjon som kan avklare hvilken rolle DEET spilte. Dette er også de eneste to DEET-relaterte dødsfallene som er rapportert i AAPCC-systemet i denne perioden.

Studien undersøker også sammenhengen mellom konsentrasjon og symptomenes alvorlighetsgrad. Klassifiseringssystemet som brukes av giftinformasjonssentrene deler inn konsentrasjonen i tre grupper: lav (under 11%); middels (mellom 11% og 50%); og høy (over 50%). Alle konsentrasjonsgruppene var representert innenfor kategoriene mild, moderat og alvorlig effekt, med en noenlunde jevn fordeling mellom kategoriene. I de to tilfellene som endte med dødsfall var det i begge tilfellene brukt høy konsentrasjon. Det er således ikke mulig å påvise noen sammenheng mellom konsentrasjon og utfall, men det presiseres at

dataene er for usikre for å trekke noen bestemt konklusjon, da anvendt konsentrasjon i mange tilfeller ikke er oppgitt.

Et annet interessant funn er at barn gjennomgående hadde et mer godartet utfall av eksponeringen enn voksne. I gruppen "ingen effekt" var 27,4% spedbarn, 67,2% barn, 1,4% tenåringer og 4,0% voksne. I gruppen "mild effekt" var 6,7% spedbarn, 72,6% barn, 5,0% tenåringer og 15,8% voksne. I gruppen "alvorlig effekt" var 11,5% spedbarn, 26,9% barn, 11,5% tenåringer og 50,0% voksne. Dette viser at tilfellene med ingen eller mild effekt hovedsakelig besto av barn, mens tilfellene med moderat eller alvorlig effekt hovedsakelig bestod av voksne. De to dødsfallene var begge voksne.

Briassoulis et al. oppsummerer de 18 publiserte tilfellene frem til 2001 av nevrotoksisitet hos barn under 16 år der DEET er angitt som mulig årsak (33). Tre av pasientene (17%) døde. Krampeanfall var signifikant hyppigst ved dermal eksponering ($P < 0,01$), mens koma var signifikant hyppigst ved oral eksponering ($P < 0,05$). Av disse 18 tilfellene hadde 22% brukt produkter med en DEET-konsentrasjon under 16%, og 33% hadde brukt produkter med en konsentrasjon under 20%, og det konkluderes med at mortaliteten ikke korrelerte med hverken DEET-konsentrasjonen i benyttet produkt, eksponeringens varighet eller bruksmønsteret. Det vises til at flere av encefalopatitilfellene kom etter kortvarig eksponering for produkter med så lite som 10% DEET.

For 8 av de 18 tilfellene er det angitt alternative diagnoser som også kunne forklare symptomene. Laboratorieundersøkelser viste at 3 pasienter hadde økning i hvite blodlegemer, og man hadde der diagnosene encefalitt eller parainfeksiøse kramper som differensialdiagnoser.

I tillegg til disse tilfellene av encefalopati hos barn er det også rapportert ett tilfelle av akutt manisk psykose hos en voksen pasient, en kardiovaskulær hendelse og ett tilfelle av fostermisdannelser. Her er det imidlertid angitt mulighet for alternative etiologier, og sammenhengen med DEET er høyst usikker. (24).

United States Environmental Protection Agency anslår at 50 – 80 millioner personer bruker DEET minst én gang pr. år, og har ut fra dette beregnet at insidensen av krampeanfall er ca. 1 pr. 100 millioner brukere (27).

4.2.4. Bruk hos barn

Ettersom de fleste publiserte tilfellene av nevrotoksisitet etter bruk av DEET har vært hos barn, er det lagt spesiell vekt på forsiktighet i denne aldersgruppen. Mange av sikkerhetsforskriftene utarbeidet av EPA omhandler bruk hos barn (tabell 4). Den amerikanske barnelegeforeningen har også utarbeidet retningslinjer for bruk hos barn, som anbefaler at konsentrasjoner over 10% ikke brukes hos barn, samt at det frarådes å bruke DEET under klær, på barns hender og rundt munnen, og at hudområdene som er behandlet vaskes etter at beskyttelse mot mygg ikke lenger er nødvendig (34).

1. Read and follow all directions and precautions on this product label.
2. Do not apply over cuts, wounds, or irritated skin.
3. Do not apply near eyes and mouth. Apply sparingly around ears.
4. Do not apply to children's hands.
5. Do not allow children to handle this product.
6. When using on children, apply to your own hands and then put it on the child.
7. Use just enough repellent to cover exposed skin and/or clothing.
8. Do not use under clothing.
9. Avoid over-application of this product.
10. After returning indoors, wash treated skin with soap and water.
11. Wash treated clothing before wearing it again.
12. Use of this product may cause skin reactions in rare cases.
13. If you suspect a reaction to this product, discontinue use, wash treated skin, and call your local poison control center.
14. If you go to a doctor, take this product with you.

Tabell 4: Amerikanske sikkerhetsforskrifter for bruk av DEET, pålagt av Environmental Protection Agency (27).

En spørreundersøkelse blant 301 foreldre, publisert i 2005, undersøker hvorvidt disse sikkerhetsforskriftene overholdes ved bruk av DEET hos barn (35). Resultatene viser at etterlevelsen av forskriftene er variabel. 75,7% påførte repellenten kun én gang om dagen; blant de øvrige påførte 85,2% repellenten to ganger og 8,2% tre ganger. Intervallet mellom appliseringene varierte fra 15 minutter til 13 timer, med et gjennomsnitt på 4 timer. Rådet om at foreldre bruker egne hender til å påføre repellent i barnas ansikt ble fulgt av 54,3%; 32,4% lot barnet påføre repellenten med egne hender og 10,5% sprayet repellenten direkte på barnas ansikt. 53,8% brukte produkter med mer enn 10% DEET og flere av de spurte anga at de kjøpte ett produkt som de brukte på hele familien. I 55,1% av tilfellene ble repellenten ikke vasket av før barna la seg. Videre anslår studien at 31 – 65 % av foreldrene unnlot å følge retningslinjene på pakningsvedlegget.

4.2.5. Bruk hos gravide

USAs Environmental Protection Agency viser til dyreforsøk med tanke på eventuell teratogen effekt. Det ble funnet økt insidens av spontanabort, samt nevrologiske effekter, hos gravide rotter som mottok 750 mg/kg/dag, mens det i gruppene under (100 mg/kg/dag og 250 mg/kg/dag) ikke ble funnet slike effekter. Dette gir en NOEL på 250 mg/kg/dag. Hos kaniner ble det ikke funnet toksiske effekter ved en dose på 325 mg/kg/dag, som var høyeste testede dose. Disse verdiene tilsvarer NOELs for øvrige toksiske effekter, og tilsier at bruk av DEET ikke innebærer noen særskilt risiko for fosterskader (27).

Det er utført en randomisert kontrollert studie der 897 gravide kvinner i Thailand påførte enten DEET (1,7 g/dag) eller placebo på huden, fra 3. – 7. måned og ut graviditeten (36). Forsøkspersonene ble fulgt opp med tanke på symptomer under graviditeten, i tillegg til at barna ble fulgt opp i første leveår. Det ble ikke funnet forskjeller mellom DEET-gruppen og placebogruppen for hverken utviklingsforstyrrelser ($p=0,72$), barnedødsfall ($p=0,71$) eller nevrologiske symptomer ved fødsel ($p=0,164$). Det var heller ikke signifikant forskjell på vekt, lengde, hodeomkrets eller armomkrets, hverken ved fødsel eller ved ett års alder. Den eneste forskjellen som ble funnet mellom gruppene var at kvinnene i DEET-gruppen oftere opplevde varmek følelse på huden, og denne forskjellen var signifikant ($p<0,001$). Forfatterne

konkluderer med at bruk av DEET synes trygt for gravide i 2. og 3. trimester, men påpeker at kvinner i 1. trimester ikke var med i studien.

5. Diskusjon

Samtlige oversiktsartikler og studier som er vurdert viser at DEET er en svært god myggrepellent, og at beskyttelsestiden øker i takt med konsentrasjon av produktet på huden. Det kreves en viss minimumskonsentrasjon på huden for å gi 95 % effektiv myggbeskyttelse. Ved bruk av DEET vil konsentrasjonen på huden gradvis falle, som følge av fordampning, mekanisk bearbeiding og svette, til den faller under denne minimumskonsentrasjonen. Den beskrevne virketiden varierer en del, men konsentrasjoner på 20 – 30 % kan forventes å gi 4 – 6 timers beskyttelse.

Det er imidlertid ofte ikke tatt hensyn til at DEETs effektivitet ikke er lik for ulike myggarter. Det store flertallet av laboratorieforsøk som er gjort på DEET, og som beskrives i denne oppgaven, har benyttet mygg av slekten *Aedes* (4), mens det er gjort få forsøk på mygg i *Anopheles gambiae*-gruppen, som er hovedvektoren for malaria i Afrika sør for Sahara. Samtlige studier som sammenligner malariamygg, *Anopheles* sp., med andre slekter som *Aedes* og *Culex*, har vist at malariamygg har en betydelig høyere toleranse for DEET enn øvrig mygg (16, 22, 37). Med andre ord er terskelkonsentrasjonen for beskyttelse mot malariamygg høyere enn for andre mygg. Dette innebærer at en DEET-dose som gir flere timers beskyttelse mot mygg i underfamilien *Culicinae* vil gi en betydelig kortere beskyttelse mot malariamygg. For å kompensere for dette må enten den påførte dosen økes (ved å benytte et produkt med høyere konsentrasjon), eller produktet må påføres oftere.

Et annet moment som taler for at en høyere konsentrasjon kan være nødvendig i malariaendemiske områder, er at svette og høy temperatur i omgivelsene medfører at DEETs konsentrasjon faller raskere enn ellers (4, 5). Da malaria hovedsakelig finnes i tropiske områder, kan den reelle beskyttelsen være lavere enn ved laboratorieforsøk i tempererte områder.

Effektiv bruk er avhengig av at produktet brukes på en slik måte at en effektiv hudkonsentrasjon oppnås. De to studiene som vurderte sammenhengen mellom påført dose og hudkonsentrasjon kom til forskjellige resultater: den ene (n=121) fant at det kun var ved bruk av produkter med minst 50% DEET at oppnådd hudkonsentrasjon var minst 0,5 mg/cm² (14), mens den andre (n=120) viste at det var mulig å oppnå konsentrasjoner på over 1 mg/cm² med bare 30% DEET (17). Til sammenlikning viser studien til Costantini m.fl. at en hudkonsentrasjon på 0,6 mg/cm² er nødvendig for å gi fullstendig beskyttelse mot *Anopheles*-mygg i fire timer, mens 0,8 mg/cm² gir en enda lenger beskyttelsestid (16). Det er vanskelig å komme med noen sikker konklusjon ettersom man har få studier, som i tillegg har motstridende resultater, men resultatene antyder at det er usikkerhet rundt beskyttelsen mot malariamygg ved bruk av produkter med under 50% DEET. En forskjell som kan ha betydning er at deltakerne i Golendas studie fikk anvist hvilken mengde repellent de skulle bruke, mens Throwers studie overlot til deltakerne å velge en passende mengde ut fra produktets bruksanvisning og eget skjønn. Dette kan tilsi at mange påfører for lite repellent dersom de ikke er instruert på forhånd. I tillegg var det få som kompenserte for lav konsentrasjon ved å påføre repellent oftere (14). Dette taler også for at beskyttelsen kan være for dårlig ved lave konsentrasjoner av DEET, når man tar hensyn til den reelle bruken av disse hos reisende til malariaendemiske områder.

Effekten av å bruke andre formuleringer enn etanolløsninger, såkalte extended release-formuleringer, er usikker. Enkelte studier har vist at man ved bruk av disse kan bruke vesentlig lavere DEET-konsentrasjon for å oppnå samme effekt som en etanolløsning. Andre studier har vist at forskjellen er mer beskjeden, eller til og med ikke-eksisterende. Derimot antyder resultatene at slike formuleringer kan gi nedsatt opptak av DEET gjennom huden, og dermed lavere systemisk eksponering. Årsaken til at dataene ikke er samstemte når det gjelder extended release-formuleringer kan være at det finnes få slike formuleringer, og at sammensetningen av disse er forskjellig. De ulike formuleringene kan derfor ha ulike egenskaper både med hensyn til virketid og med hensyn til absorpsjon, og dette kan med fordel utredes videre.

I en risikovurdering må det også tas hensyn til hvilke konsekvenser man ønsker å unngå. Ved reiser i malariaendemiske områder, der myggstikk kan medføre potensielt dødelig falciparummalaria, er det nødvendig med en dosering som gir svært god beskyttelse. Ved bruk i Norge, der man hovedsakelig ønsker å unngå myggstikk av bekvemmelighetshensyn, vil en lavere dosering, som fortsatt gir god beskyttelse, være akseptabel.

Resultatene fra toksikologiske studier er varierende. Ved bruk av samme metodikk kom myndighetene i USA frem til at DEET kunne godkjennes i alle konsentrasjoner, mens man i Canada satte en grense på 30% for voksne og 10% for barn. Det er vist at dersom DEET brukes flere ganger om dagen, vil man kunne komme til å overskride de sikkerhetsmarginene som er beregnet ut fra dyreforsøk (28).

Når man ser på de tilfellene som faktisk er meldt av toksiske reaksjoner etter bruk av DEET, er det ikke vist noen sammenheng mellom konsentrasjonen som ble brukt og graden av toksisitet. Videre medfører de fleste overeksponeringer for DEET ingen symptomer, og ved bruk på huden er det i flesteparten av tilfellene hudsymptomer som oppleves. I de tilfellene der det er forekommet mer alvorlige reaksjoner, har det vært brukt produkter med både lav, middels og høy konsentrasjon. Dette tyder på at bruksmønsteret kan ha større betydning enn konsentrasjon.

Bruken av DEET på verdensbasis anslås å være svært stor. Gitt den utbredte bruken av DEET er antall rapporterte tilfeller av toksisitet lavt, og tilsier at risikoen for nevrologiske bivirkninger er svært lav (24, 27, 30)

Bruk hos barn er av spesiell interesse, ettersom det er hos barn de fleste tilfellene av alvorlige nevrologiske bivirkninger er rapportert. Det er vist at barn oppnår en høyere dagsdose enn voksne ved bruk av DEET (27), og det er mulig at farmakokinetikken kan være annerledes og mer uforutsigbar hos barn (33). Samtidig viste studien som gjennomgikk innrapporterte overeksponeringer at de aller fleste eksponeringer ikke ga symptomer, og at barn gjennomgående hadde et mildere utfall av eksponeringen enn voksne (32). Enkeltstående krampeanfallet er ikke uvanlig hos barn, for eksempel som følge av infeksjoner, og gitt den betydelige bruken av DEET i den vestlige verden kan en sammenheng i tid mellom DEET-bruk og kramper i flere tilfeller være tilfelig (24, 25). I flere av de dokumenterte tilfellene av encefalopati hos barn er andre etiologier, som infeksjonssykdommer, ikke utelukket. Konklusjonen må bli at forsiktighet bør utvises ved bruk av DEET hos barn, men at bruk av lave konsentrasjoner ikke nødvendigvis medfører noen lavere risiko. Derimot bør bruken av DEET vurderes opp mot kravet til beskyttelse mot myggstikk, og minste effektive mengde brukes. I tillegg bør sikkerhetsforskriftene følges.

De studiene som er utført på bruk av DEET hos gravide viser at det ikke er noen særskilt risiko forbundet med dette (27, 36). Når man da tar med i vurderingen at falciparummalaria hos gravide har vesentlig flere og mer alvorlige komplikasjoner enn hos ikkegravide, og medfører en alvorlig risiko både for moren og fosteret (38), samt at flere malariaproylaksedmidler ikke kan brukes under graviditet (39), tilsier en risikovurdering at DEET bør inngå som en del av malariaproylaksenstrategien også hos gravide.

6. Konklusjon

Beskyttelsestiden DEET gir mot myggstikk har en direkte sammenheng med anvendt konsentrasjon. Bruk av produkter innenfor den norske grensen på 20% vil gi en akseptabel beskyttelse mot mygg i slektene *Aedes* og *Culex*, men det bemerkes at maksimalgrensen i Norge er lavere enn i alle de andre landene det er sammenliknet med. Derimot er det mye som tyder på at en konsentrasjon på 20% vil være for dårlig som ledd i en malariaproylaksestrategi, dels fordi malariamygg er mer tolerante for DEET enn øvrige myggslekter, dels fordi de klimatiske forholdene i malariaendemiske områder medfører raskere tap av DEET fra huden. Nødvendig konsentrasjon for beskyttelse mot malariamygg er usikker, men begrensede data tyder på at minst 50% bør brukes. Det er ikke funnet holdepunkter for at høyere konsentrasjon av DEET medfører større risiko for toksisitet. Antall rapporterte bivirkninger er gjennomgående lite sammenholdt med den estimerte bruken av DEET på verdensbasis. Produkter som bruker andre løsningsmidler enn etanol, for eksempel polymerformuleringer, kan gi lavere absorpsjon av DEET fra huden og bør vurderes som virkemiddel for å unngå overeksponering.

7. Litteratur

1. Folkehelseinstituttet. Malaria importert til Norge. 27.10.2003, avlest 31.01.2008. Tilgjengelig fra: <http://www.fhi.no/artikler?id=27110>.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Protection against Mosquitoes and Other Arthropods. Avlest 20.04.2007. Tilgjengelig fra: <http://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2010/chapter-2/protection-against-mosquitoes-ticks-insects-arthropods.aspx>
3. Roberts JR, Reigart JR. Does Anything Beat DEET? *Pediatr Ann.* 2004; 33(7): 444-453.
4. Fradin MS. Mosquitoes and Mosquito Repellents: A Clinician's Guide. *Ann Intern Med.* 1998; 128(11): 931-940.
5. Brown M, Hebert AA. Insect repellents: An overview. *J Am Acad Dermatol.* 1998; 38(4): 243-249.
6. Chiodini P, Hill D, Lalloo D, Lea G, Walker E, Whitty C, et al (Health Protection Agency). Bite Prevention. I: Guidelines for Malaria Prevention in Travellers from the United Kingdom. 2007. Tilgjengelig fra: http://www.hpa.org.uk/webw/HPAweb&HPAwebStandard/HPAweb_C/1203496943315?p=1153846674367.

7. Health Canada. Supplement – Canadian Recommendations for the Prevention and Treatment of Malaria Among International Travellers. Canada Communicable Disease Report. 2004 Jun;3051.
8. Sudakin DL, Trevathan WR. DEET: A Review and Update of Safety and Risk in the General Population. J Toxicol Clin Toxicol. 2003; 41(6): 831-839.
9. Vike E (Statens Forurensningstilsyn). E-post til forfatteren. 26. februar 2008.
10. Lie B, Rysstad O, Skjeie H. Vedr. aksomhet i forebyggende reisemedisin – bruk av repellenter [brev til fylkeslegene i Vest-Agder og Oslo]. 12.01.2003.
11. Rysstad O, Skjeie H. Sprikende om ikke-medikamentell profylakse mot malaria. Tidsskr Nor Lægeforen 2003; 123: 82
12. Schreck CE. Techniques for the evaluation of insect repellents: a critical review. Ann Rev Entomol. 1977; 22: 101-119.
13. Miller P. Avoiding the bite: update on DEET. CPJ. 2004; 137(5): 44-47.
14. Thrower Y, Goodyer LI. Application of Insect Repellents by Travelers to Malaria Endemic Areas. J Travel Med. 2006; 13(4): 198-202.
15. Fradin MS, Day JF. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. N Engl J Med. 2002; 347(1): 13-18.
16. Costantini C, Badolo A, Ilboudo-Sanogo E. Field evaluation of the efficacy and persistence of insect repellents DEET, IR3535 and KBR 3023 against *Anopheles gambiae* and other Afrotropical vector mosquitoes. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2004; 98(11): 644-652.
17. Golenda CF, Solberg VB, Burge R, Gambel JM, Wirtz RA. Gender-related efficacy difference to an extended duration formulation of topical *N,N*-diethyl-*m*-toluamide (DEET). Am J Trop Med Hyg. 1999; 60(4): 654-657.
18. Nentwig G. Use of repellents as prophylactic agents. Parasitol Res. 2003; 90: 40-48.
19. Stinecipher J, Shah J. Percutaneous permeation of *N,N*-diethyl-*m*-toluamide (DEET) from commercial mosquito repellents and the effect of solvent. J Toxicol Environ Health. 1997; 52(2): 119-135.
20. Sadanandane C, Mathew N, Jambulingan P, Kalyanasundaram M. Laboratory & field evaluation of controlled release formulation of the insect repellents *N,N*-diethyl-*m*-toluamide (DEET) & *N,N*-diethyl phenylacetamide (DEPA) against mosquito vectors. Indian J Med Res. 2001; 113: 108-112.

21. Schofield S, Tepper M, Gadawski R. Field Evaluation Against Mosquitoes of Regular and Polymer-Based Deet Formulations in Manitoba, Canada, with Comment on Methodological Issues. *J Med Entomol.* 2007; 44(3): 457-462.
22. Frances SP, Waterson DGE, Beebe NW, Cooper RD. Field Evaluation of Repellent Formulations Containing Deet and Picaridin Against Mosquitoes in Northern Territory, Australia. *J Med Entomol.* 2004; 41(3): 414-417.
23. Selim S, Hartnagel RE Jr, Osimitz TG, Gabriel KL, Schoenig GP. Absorption, Metabolism, and Excretion of *N,N*-Diethyl-*m*-toluamide Following Dermal Application to Human Volunteers. *Fundam Appl Toxicol.* 1995; 25(1): 95-100.
24. Osimitz TG, Murphy JV. Neurological Effects Associated with Use of the Insect Repellent *N,N*-Diethyl-*m*-toluamide (DEET). *J Toxicol Clin Toxicol.* 1997; 35(5): 435-441.
25. Koren G, Matsui D, Bailey B. DEET-based insect repellents: safety implications for children and pregnant and lactating women. *CMAJ.* 2003; 169(3): 209-212.
26. Abdel-Rahman A, Dechkovskaia AM, Goldstein LB, Bullman SH, Khan W, El-Masry EM, et al. Neurological Deficits Induced by Malathion, Deet, and Permethrin, Alone or in Combination in Adult Rats. *J Toxicol Environ Health A.* 2004; 67(4): 331-356.
27. United States Environmental Protection Agency. Reregistration Eligibility Decision (RED): DEET. Washington D.C., september 1998. Tilgjengelig fra: <http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/0002red.pdf>
28. Antwi FB, Shama LM, Peterson RK. Risk assessments for the insect repellents DEET and picaridin. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2008; 51(1): 31-36.
29. Klaassen CD. Casarett & Doull's Toxicology: the basic science of poisons. 6th edition. Kansas: McGraw-Hill; 2001.
30. Goodyer L, Behrens RH. Short report: The safety and toxicity of insect repellents. *Am J Trop Med Hyg.* 1998; 59(2): 323-324.
31. Health Canada, Pest Management Regulatory Agency. Re-evaluation Decision Document: Personal insect repellents containing DEET (*N,N*-diethyl-*m*-toluamide and related compounds). Ottawa, 15. april 2002. Tilgjengelig fra: <http://www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/>
32. Bell JW, Veltri JC, Page BC. Human exposures to *N,N*-diethyl-*m*-toluamide Insect Repellents Reported to the American Association of Poison Control Centers 1993-1997. *Int J Toxicol.* 2002; 21: 341-352.
33. Briassoulis G, Narlioglou M, Hatzis T. Toxic encephalopathy associated with use of DEET insect repellents: a case analysis of its toxicity in children. *Hum Exp Toxicol* 2001; 20: 8-14.

34. American Academy of Pediatrics. Follow Safety Precautions When Using DEET on Children. 2003, avlest 16.01.2008. Tilgjengelig fra: <http://www.aap.org/family/wnv-jun03.htm>.
35. Menon KS, Brown AE. Exposure of Children to Deet and Other Topically Applied Insect Repellents. *Am J Ind Med*. 2005; 47(1): 91-97.
36. McGready R, Hamilton KA, Simpson JA, Cho T, Luxemburger C, Edwards R, et al. Safety of the insect repellent *N,N*,-diethyl-*m*-toluamide (DEET) in pregnancy. *Am J Trop Med Hyg*. 2001; 65(4): 285-289.
37. Badolo A, Ilboudo-Sanogo E, Ouédraogo AP, Costantini C. Evaluation of the sensitivity of *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* complex mosquitoes to two insect repellents: DEET and KBR 3023. *Trop Med Int Health*. 2004; 9(3): 330-334.
38. Chedraui PA, Daily J, Wylie BJ. Overview of malaria in pregnancy. UpToDate. 28. januar 2009, avlest 10. september 2009. Tilgjengelig fra: <http://www.uptodate.com/online/content/topic.do?topicKey=maternal/4804&selectedTitle=1~150>
39. Chedraui PA, Daily J, Wylie BJ. Treatment and prevention of malaria in pregnancy. UpToDate. 5. mars 2009, avlest 10. september 2009. Tilgjengelig fra: <http://www.uptodate.com/online/content/topic.do?topicKey=maternal/9833&selectedTitle=5~150>